

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-280369

(43)Date of publication of application : 29.10.1996

(51)Int.Cl.

A23L 3/3571

A23L 3/3526

(21)Application number : 07-115261

(71)Applicant : ASAMA KASEI KK

(22)Date of filing : 18.04.1995

(72)Inventor : YAJIMA MIZUO
NOZAKI KAZUHIKO

(54) PRESERVATIVE FOR FOOD

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a preservative for food having high preserving effect and safety without affecting quality of food by mixing an antiviral material reuterin produced by a lacto bacillus strain, Lactobacillus reuteri with bacteriocin derived produced by a lacto bacillus strain.

CONSTITUTION: Reuterin obtain by culturing a lacto bacillus strain, Lactobacillus reuteris [e.g. Lactobacillus reuteri strain DSM20016 (ATCC53609), etc.] is mixed with bacteriocin produced by a lacto bacilluss strain such as Lactococcus lactis, genera Pediococcus, Lactobacillus, Leconostoc and Propionibacterium to obtain the objective preservative for food having high preserving effect and safety without affecting quality of food.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 05.04.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3549008

[Date of registration] 30.04.2004

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

BEST AVAILABLE COPY

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-280369

(43) 公開日 平成8年(1996)10月29日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 L 3/3571			A 2 3 L 3/3571	
3/3526	5 0 1		3/3526	5 0 1

審査請求 未請求 請求項の数 2 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願平7-115261	(71) 出願人	000101215 アサマ化成株式会社 東京都中央区日本橋小伝馬町20番3号
(22) 出願日	平成7年(1995)4月18日	(72) 発明者	矢嶋 瑞夫 東京都中央区日本橋小伝馬町20番3号 ア サマ化成株式会社内
		(72) 発明者	野崎 一彦 東京都中央区日本橋小伝馬町20番3号 ア サマ化成株式会社内
		(74) 代理人	弁理士 坂口 啓子

(54) 【発明の名称】 食品用保存剤

(57) 【要約】

【目的】 保存効果が高く、安全で、食品の品質に影響しない食品用保存剤を提供すること

【構成】 乳酸菌ラクトバチルス・ロイテリ (Lactobacillus reuteri) によって産生された抗菌性物質ロイテリンとLactococcus lactis subsp. diacetylactis の産生するバクテリオシン S 50などの乳酸菌の産生するバクテリオシンを含有させる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 乳酸菌ラクトバチルス・ロイテリ (*Lactobacillus reuteri*) によって産生されたロイテリン (*reuterin*) および乳酸菌によって産生されたバクテリオシンを含有する食品用保存剤。

【請求項 2】 乳酸菌によって産生されたバクテリオシンが、ラクトコッカス・ラクテス (*Lactococcus lactis*)、ペディオコッカス (*Pediococcus*) 属、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属、ロイコノストック (*Leuconostoc*) 属またはプロピオニバクテリウム (*Propionibacterium*) 属の産生するバクテリオシンである請求項 1 記載の食品用保存剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は食品用保存剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来の食品用保存剤は、細菌に対して抗菌効果のあるものが多く、酵母やカビの発育による食品の変質が問題になっている。特に調理済み食品などの食品産業分野では、健康志向による低塩、低糖の傾向があるために保存性が悪く、食品の原料に由来する微生物、あるいは製造工程中に混入した菌類の繁殖による食品の変質の問題が大きい。このため、これらの微生物の発育を抑える食品用保存剤が求められている。

【0003】 このような状況の下で、腸内細菌の一種であるラクトバチルス・ロイテリ (*Lactobacillus reuteri*) が嫌気的条件下の培地中で産生する抗菌性物質であるロイテリンが、一部の細菌、酵母およびカビに対して抗微生物作用を有することから、ロイテリンを食品用保存剤として利用することが提案された (特表平 2-503385 号公報)。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 しかし、ロイテリン単独ではその抗菌スペクトルが狭いこと、および食品の保存性を向上させるためには多量に使用する必要があるため、ロイテリンを単独で食品用保存剤として用いることは実際上困難であった。

【0005】 そこで、本発明はロイテリンの食品中での抗微生物作用を増大させることにより、ロイテリンの食品への添加量を極力少なくし、幅広い抗菌スペクトルをカバーして安全で保存性の高い食品を製造するための食品用保存剤を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】 本発明者等は、上記目的を達成すべく、研究を重ねた結果、乳酸菌の産生するバクテリオシンをロイテリンとともに食品に含有させることにより、食品中におけるロイテリンの抗菌活性を上昇させ、抗菌スペクトルを広くすることができ、添加した食品の保存性を飛躍的に向上させることができることを見だし、本発明に到達した。

【0007】 すなわち、本発明は、乳酸菌ラクトバチルス・ロイテリ (*Lactobacillus reuteri*) によって産生されたロイテリン (*reuterin*) と、乳酸菌の産生するバクテリオシンを含有する食品用保存剤を提供するものである。

【0008】 乳酸菌ラクトバチルス・ロイテリ (*Lactobacillus reuteri*) は、動物の腸内細菌の一種であり、腸内あるいは嫌気的条件下の培地中で生育するヘテロ乳酸菌であり、その菌株は ATCC に 2 株寄託されている (受託 No. 53608 および 53609)。

【0009】 ロイテリン (*reuterin*) は、嫌気性雰囲気下にグリセリンを含有する培地中で、上記ラクトバチルス・ロイテリの産生する抗菌性物質である。上記培養上清中に、グリセリンの発酵産物である β -ヒドロキシプロピオンアルデヒド (β -hydroxypropionaldehyde) が検出され、この β -ヒドロキシプロピオンアルデヒドは、水溶液中で単量体、水和物および二量体の形態で存在すると推定され、ロイテリンと称されている。ロイテリンは、グラム陽性細菌、グラム陰性細菌、酵母およびカビに対して抗菌性を示す。

【0010】 本発明において、ロイテリンとしては、ラクトバチルス・ロイテリ (*L. reuteri*) をグリセリンを含む培地中で培養したのち、例えば特表平 2-503385 号公報記載のように、培養上清から HPLC 等で分離精製したものをを用いる。また、培養上清の濃縮物も用いることができる。

【0011】 一方、乳酸菌の産生するバクテリオシンとは乳酸菌によって産生されるタンパク質性の抗菌性物質をいう。本発明において、乳酸菌の産生するバクテリオシンとしては、ラクトコッカス・ラクテス (*Lactococcus lactis*)、ペディオコッカス (*Pediococcus*) 属、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属、ロイコノストック (*Leuconostoc*) 属およびプロピオニバクテリウム (*Propionibacterium*) 属菌の産生するものを挙げることができる。

【0012】 ラクトコッカス・ラクテス (*Lactococcus lactis*) によって産生されたバクテリオシンとしては、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* の産生するナisin [Nisin; Jarvis, B. et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 168, 153 (1968) 参照]、ラクテイシン (lactacin) [Piard, J. C. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 279 (1992) 参照] およびラクトストレプシス [*Lactostreptococcus*; Kozak, W. et al., *J. Dairy Res.*, 45, 247 (1978) 参照]、*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* の産生するディプロコシン [Diplococcin; Davy, G. P. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, 84-89 (1981) 参照]、*Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* の産生するバクテリオシン S50 [Bacteriocin S50; Kojic, M. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1835 (1991) 参照] を挙げることができる。

【0013】 ペディオコッカス (*Pediococcus*) 属菌の産

生するバクテリオシンは、一般にペディオシン (Pediocin) と称されており、例えば、*Pediococcus acidilactici* H の産生するペディオシン A c H [Pediocin Ach; Bhunia, A. K. et al., J. Appl. Bacteriol., 65, 261 (1988) 参照]、*Pediococcus acidilactici* PAC1.0 の産生するペディオシン P A 1 [Pediocin PA-1; Gonzalez, C. F. and Kunka, B. S., Appl. Environ. Microbiol., 53, 2534 (1987) 参照] および *Pediococcus pentosaceus* FBB 61 の産生するペディオシン A [Pediocin A; Daeschel, M. A. et al., Appl. Environ. Microbiol., 50, 1538 (1985) 参照] を挙げることができる。

【0014】ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属菌の産生するバクテリオシンとしては、例えば、*Lactobacillus helveticus* LP27 の産生するラクトシン 27 [Lactocin 27; Upreti, G. C., Antimicrob. Agents Chemother., 4, 487 (1973) 参照]、*Lactobacillus acidophilus* TK8912 の産生するアシドシン 8912 (Acidocin 8912)、*Lactobacillus plantarum* C-11 の産生するプラントリシン A [Plantaricin A; Daeschel, M. A. et al., Food Microbiol., 7, 91 (1990) 参照] および *Lactobacillus piscicola* LV17 の産生するバクテリオシンを挙げることができる。

【0015】ロイコノストック (*Leuconostoc*) 属菌の産生するバクテリオシンとしては、例えば、*Leuconostoc paramesenteroides* の産生するロイコノシン S [Leucocin S; Lewus, C. B., Appl. Environ. Microbiol., 58, 143 (1992) 参照]、*Leuconostoc gelidum* UAL187 の産生するロイコシン A-U A L 187 [Leucocin A-UAL187; Hastings, J. W. et al., J. Bacteriol., 173, 7491 (1991) 参照] および *Leuconostoc mesenteroides* の産生するメセンテロシン 5 [Mesenterocin 5; Daba, H. et al., Appl. Environ. Microbiol., 57, 3450 (1991) 参照] を挙げることができる。

【0016】また、プロピオニバクテリウム (*Propionibacterium*) 属菌の産生するバクテリオシンとしては、例えば、*Propionibacterium jensenii* P126 の産生するジェンセニン G (Jensenin G; Grinstead, D. A. et al., Appl. Environ. Microbiol., 58, 215 (1992) 参照) および *Propionibacterium thoenii* P127 の産生するプロピオニシン P L G-1 [Propionicin PLG-1; Lyon, W. et al., Appl. Environ. Microbiol., 57, 701 (1991) 参照] を挙げることができる。これらのバクテリオシンは 2 種以上を併用することができる。

【0017】本発明の食品用保存剤は、食品中に、ロイテリンが、好ましくは 0.003~0.5 重量%、さらに好ましくは 0.01~0.2 重量% 含有されるように添加して使用する。食品が調味液や溶液の状態の場合、水溶液中で保存の場合もこの範囲で使用するといふ。

【0018】なお、上記ロイテリンとバクテリオシンを別々に食品またはその材料に添加する場合についても、

本発明の食品用保存剤の範囲に含まれる。

【0019】

【作用】本発明の食品用保存剤中のロイテリンは、微生物のリボヌクレオチドレダクターゼ活性に依存する DNA の合成を阻害することにより抗菌性を発揮することが知られている。乳酸菌の産生するバクテリオシンを共存させることにより、ロイテリンの細菌類および酵母、カビ (真菌類) に対する抗菌作用を高める作用機構は明らかではないが、これらのバクテリオシンが微生物細胞内でロイテリンと共存することにより、DNA 合成が相乗的に阻害されるものと推定される。

【0020】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明する。実施例中、% は特にことわらない限り、重量% である。なお、実施例において用いたロイテリンおよびバクテリオシンの製法は下記のとおりである。

【0021】〔ロイテリンの製法〕乳酸菌ラクトバチルス・ロイテリ菌株 DSM20016 (ATCC53609) を培地 (ペプトン 1%、肉エキス 1%、酵母エキス 1%、グルコース 1%、クエン酸アンモニウム 0.2%、酢酸ナトリウム 0.5%、硫酸マグネシウム 0.01%、硫酸マンガン 0.005%、リン酸二カリウム 0.2%、pH 7.0) 50 ml に一白金耳接種後、37℃ で一夜静置培養した培養液 50 ml を、同培地にグリセリン 4.6% を添加した培地 (産生培地) 1 リットルに接種し、37℃ で一夜静置培養した。この培養液を 4,000 rpm、10 分間遠心分離し、得られた上清をさらにポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターで濾過して除菌した。除菌された培養液約 1 リットルをロータリーエバポレーターを用いて、40℃ で 100 g まで減圧濃縮した。この濃縮液はロイテリンを約 1% 含有しており、実施例においては、この濃縮液をロイテリンとして用いた。

【0022】〔バクテリオシンの製法〕1 リットルの三角フラスコを 2 個用意し、それぞれに 5% コーンシロップおよび 0.5% 酵母エキスからなる培地 500 ml を入れ、98℃、30 分間加熱殺菌したのち、*Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* および *Pediococcus acidilactici* PAC1.0 を 1 種ずつ、それぞれ接種して、37℃、約 20 時間培養した。この培養液を 80℃、10 分間加熱した後、濃縮、噴霧乾燥して、それぞれバクテリオシン S 50 およびペディオシン P A 1 を含む粉末を得た。

【0023】また、別の三角フラスコ 3 個に、下記組成の MRS 培地 500 ml を入れ、同様に加熱殺菌後、*Lactobacillus helveticus* LP27、*Leuconostoc gelidum* UAL187 および *Propionibacterium jensenii* P126 をそれぞれ接種するほかは、前記と同様にして培養し、培養液を加熱、濃縮した後、凍結乾燥して、それぞれラクトシン 27、ロイコシン A-U A L 187 およびジェンセニ

ンGを含む粉末を得た。これらの粉末をバクテリオシンとして用いた。

【0024】MRS培地の組成 (g/l)

ポリペプトン〔大五栄養(株)製〕10；肉エキス〔和光(株)製〕10；酵母エキス〔オリエンタル酵母(株)製〕5；グルコース20；Tween 80 1；K₂HPO₄ 2；無水酢酸ナトリウム5；クエン酸アンモニウム2；MgSO₄・H₂O 0.1；MnSO₄・4～5H₂O 0.5

【0025】実施例1

スケソウダラ冷凍すり身2.5kg、食塩75g、味醂50g、グルタミン酸ナトリウム25g、砂糖25g、馬鈴薯でんぷん175g、および氷水1kgを配合した基本組成に、表1に示す保存剤を表1に示す割合になるように添加し、30分間攪拌後、得られた肉のりを塩化ビニリデンフィルム(折径48mm)に約100g詰め、両端を結紮し、90℃の熱水中で30分間加熱した後、流水で30分間冷却して蒲鉾を得た。得られた蒲鉾を、保存剤を添加することなく同様にして得られた蒲鉾と共に、保存試験の標準とした。保存試験は、上記蒲鉾を1試験区当たり10本ずつ25℃の恒温器中で保存

*し、外観を肉眼で観察して、防腐効果を判定した。すなわち、

【0026】0点：変化なし。

0.5点：極めて小さなスポット出現。

1点：コロニー様スポット1個または部分膨張1個、離水少し濁る。

2点：コロニー様スポット2個以上または部分膨張2個、離水少し濁る。

3点：コロニー様スポット多数または小さな部分膨張多数。

4点：部分膨張多数または部分軟化。

5点：全体が軟化、膨張。

【0027】として評価し、10本の試験標本の各々について評価が1点に達するまでの日数を求め、その平均を有効保存日数とした。結果を表2に示す。なお、官能検査の結果、本発明の保存剤を添加した試験区は、対照品を添加した対照区に比べて、味、色、におい等において全く差が認められず、添加による品質上の悪影響は認められなかった。

【0028】

【表1】

	ロイテリ ン (%)	バクテリ オシン S 50 (%)	ペディオ シン PAI (%)	ラクトシ ン 27 (%)	ロイコシ ン A-UAL 187 (%)	ジェンセ ニン G (%)
保存剤1 (対照品)	1	-	-	-	-	-
保存剤2 (対照品)	-	0.1	-	-	-	-
保存剤3 (対照品)	-	-	0.1	-	-	-
保存剤4 (対照品)	-	-	-	0.3	-	-
保存剤5 (対照品)	-	-	-	-	0.3	-
保存剤6 (対照品)	-	-	-	-	-	0.3
保存剤7 (本発明品)	1	0.1	-	-	-	-
保存剤8 (本発明品)	1	-	0.1	-	-	-
保存剤9 (本発明品)	1	-	-	0.3	-	-
保存剤10 (本発明品)	1	-	-	-	0.3	-
保存剤11 (本発明品)	1	-	-	-	-	0.3
保存剤12 (本発明品)	1	0.1	0.1	-	-	-
保存剤13 (本発明品)	1	0.1	-	0.3	-	-
保存剤14 (本発明品)	1	0.1	-	-	0.3	-
保存剤15 (本発明品)	1	0.1	-	-	-	0.3
保存剤16 (本発明品)	1	-	0.1	0.3	-	-
保存剤17 (本発明品)	1	-	0.1	-	0.3	-
保存剤18 (本発明品)	1	-	0.1	-	-	0.3
保存剤19 (本発明品)	1	-	-	0.3	0.3	-
保存剤20 (本発明品)	1	-	-	0.3	-	0.3
保存剤21 (本発明品)	1	-	-	-	0.3	0.3

【0029】

【表2】

保存剤の種類	有効保存日数(25℃) (日)
無添加	2.2
保存剤1(対照品)	2.9
保存剤2(対照品)	2.3
保存剤3(対照品)	2.4
保存剤4(対照品)	2.3
保存剤5(対照品)	2.4
保存剤6(対照品)	2.3
保存剤7(本発明品)	8.4
保存剤8(本発明品)	8.3
保存剤9(本発明品)	8.5
保存剤10(本発明品)	8.6
保存剤11(本発明品)	8.7
保存剤12(本発明品)	12.6
保存剤13(本発明品)	12.5
保存剤14(本発明品)	12.4
保存剤15(本発明品)	12.3
保存剤16(本発明品)	12.1
保存剤17(本発明品)	12.7
保存剤18(本発明品)	12.3
保存剤19(本発明品)	11.9
保存剤20(本発明品)	12.8
保存剤21(本発明品)	12.2

【0030】表2から明らかに、本発明の保存剤を添加したものは、対照区に比べ、その有効保存日数がはるかに長いことがわかる。

【0031】実施例2

強力粉500g、水60gおよびかん粉5gを配合した基本組成に、表1に示した組成の保存剤を添加し、十分混合した後、小型製麺機により麺線を作り、沸騰水中で4分間茹で、水冷した。水切り後、この25gをポリエチレン袋に入れて密封し、1試験区当たり10袋ずつを25℃の恒温器中に保存して外観の変化を観察して、下記のように評価して、10袋の試験標本の各々について評価が1点となるまでの日数を求めて、その平均を有効保存日数とした。結果を表3に示す。

【0032】0点：変化なし。

1点：変色、軟化、ネト、カビが1箇所が発生。

2点：変色、軟化、ネト、カビが2箇所に発生または1箇所の変敗が広がる。

3点：変色、軟化、ネト、カビが全体の1/2に広がる。

4点：変色、軟化、ネト、カビが全体の3/4に広がる。

5点：変色、軟化、ネト、カビが全体に広がる。

【0033】

【表3】

保存剤の種類	有効保存日数(25℃) (日)
無添加	1.3
保存剤1(対照品)	5.5
保存剤2(対照品)	3.2
保存剤3(対照品)	3.1
保存剤4(対照品)	2.9
保存剤5(対照品)	3.4
保存剤6(対照品)	3.3
保存剤7(本発明品)	10.9
保存剤8(本発明品)	11.3
保存剤9(本発明品)	10.6
保存剤10(本発明品)	11.4
保存剤11(本発明品)	12.1
保存剤12(本発明品)	17.5
保存剤13(本発明品)	17.6
保存剤14(本発明品)	18.1
保存剤15(本発明品)	17.9
保存剤16(本発明品)	18.2
保存剤17(本発明品)	17.8
保存剤18(本発明品)	17.7
保存剤19(本発明品)	18.2
保存剤20(本発明品)	17.6
保存剤21(本発明品)	18.3

【0034】表3から明らかに、本発明の保存剤添加麺が対照品添加麺に比べ、有効保存日数が長くなっている。

【0035】実施例3

合い挽き肉1,000g、玉葱300g、食塩10g、小麦粉60g、水50gを配合した基本組成に表1に示した保存剤を添加し、十分混合した後、10個のハンバーグに成型して25分間蒸し、冷却した。その後、1試験区あたり、10個ずつを25℃で保存して外観の変化を観察し、有効保存日数を実施例2と同様の基準で求めた結果を表4に示す。表4に示すとおり、本発明の保存剤を添加したものは対照品を添加したものに比べ、有効保存日数が長かった。また、官能検査の結果、本発明の保存剤を添加した試験区は、対照区に比べて、色、味、におい、形態等において全く差が認められず、添加による品質上の悪影響は認められなかった。

【0036】

【表4】

保存剤の種類	有効保存日数(25℃) (日)
無添加	0.8
保存剤1(対照品)	2.5
保存剤2(対照品)	2.1
保存剤3(対照品)	1.9
保存剤4(対照品)	2.2
保存剤5(対照品)	1.8
保存剤6(対照品)	1.9
保存剤7(本発明品)	5.9
保存剤8(本発明品)	5.8
保存剤9(本発明品)	5.8
保存剤10(本発明品)	5.6
保存剤11(本発明品)	5.7
保存剤12(本発明品)	10.8
保存剤13(本発明品)	10.2
保存剤14(本発明品)	10.4
保存剤15(本発明品)	10.9
保存剤16(本発明品)	9.8
保存剤17(本発明品)	9.7
保存剤18(本発明品)	9.8
保存剤19(本発明品)	9.5
保存剤20(本発明品)	9.4
保存剤21(本発明品)	9.4

10

20

【0037】実施例4

卵黄160g、牛乳1,440g、砂糖38g、小麦粉6.5g、コーンスターチ6.5gを基本組成とし、これに表1に示す保存剤を、十分に攪拌しながら弱火で加熱し、総重量の1割を煮詰めた。このカスタードクリームを冷却後、カップに充填して、25℃で保存して外観の変化を観察し、一般生菌数が 1×10^6 個/gに達するまでの日数を有効保存日数とした。結果を表5に示す。表5のとおり、本発明の保存剤を添加したものは、対照品を添加したものに比べ、有効保存日数のはるかに長かった。また、官能検査の結果、本発明の保存剤を添加した試験区は、対照区に比べて、味、色、におい、形態等において全く差が認められず、添加による品質上の悪影響は認められなかった。

【0038】

【表5】

保存剤の種類	有効保存日数(25℃) (日)
無添加	2.2
保存剤1(対照品)	2.9
保存剤2(対照品)	2.5
保存剤3(対照品)	2.2
保存剤4(対照品)	2.4
保存剤5(対照品)	2.1
保存剤6(対照品)	2.3
保存剤7(本発明品)	8.1
保存剤8(本発明品)	8.2
保存剤9(本発明品)	7.9
保存剤10(本発明品)	7.8
保存剤11(本発明品)	8.6
保存剤12(本発明品)	12.1
保存剤13(本発明品)	12.3
保存剤14(本発明品)	12.9
保存剤15(本発明品)	12.6
保存剤16(本発明品)	12.7
保存剤17(本発明品)	12.8
保存剤18(本発明品)	12.1
保存剤19(本発明品)	12.2
保存剤20(本発明品)	12.3
保存剤21(本発明品)	11.9

30 【0039】実施例5

市販の豆乳(pH7.0)40mlをガラス瓶に分注し、オートクレーブ滅菌を行った。表1に示した組成の保存剤を、表1に示した量となるように滅菌豆乳に添加混合し、全量を50mlとした。次いで、バチルス・ズブチリスの孢子懸濁液を豆乳中に、その孢子が約 10^7 個/mlとなるように接種し、90℃の水浴中で40分間加熱した後、水冷し、25℃で保存して経日的に菌数測定を行った。菌数が 10^6 個/mlになるまでの日数を有効保存日数とした。結果を表6に示す。

40 【0040】

【表6】

保存剤の種類	有効保存日数(25℃) (日)
無添加	1.3
保存剤1(対照品)	5.5
保存剤2(対照品)	3.1
保存剤3(対照品)	2.8
保存剤4(対照品)	2.5
保存剤5(対照品)	2.2
保存剤6(対照品)	2.1
保存剤7(本発明品)	10.2
保存剤8(本発明品)	10.6
保存剤9(本発明品)	11.6
保存剤10(本発明品)	12.3
保存剤11(本発明品)	12.2
保存剤12(本発明品)	17.1
保存剤13(本発明品)	16.9
保存剤14(本発明品)	16.4
保存剤15(本発明品)	16.5
保存剤16(本発明品)	16.3
保存剤17(本発明品)	16.2
保存剤18(本発明品)	16.1
保存剤19(本発明品)	15.9
保存剤20(本発明品)	16.2
保存剤21(本発明品)	15.9

【0041】実施例6

豚肉およびマトンの挽き肉の等量混合物6kgに対し、豚脂15%、食塩2.5%、重合リン酸塩0.1%、スパイス0.5%、亜硝酸ナトリウム70ppmおよび氷水10%を加え、サイレントカッターで10分間カッティングした。得られたエマルジョン肉を手動式スタッファーを用いて、約15gずつ羊腸に充填した。これをスモークハウスで40分間乾燥後、スモークおよび蒸煮を行い、中心部温度が75℃になるように加熱してウインナーソーセージを作った。このウインナーソーセージを一夜冷蔵庫に保管後、表1に示した組成の保存剤の水溶液(水溶液中の各成分の量が表1に示す量となるように調製)に2分間浸漬し、水切り風乾後、滅菌シャーレ1

枚にウインナーソーセージ2本ずつ入れたものを1試験区10枚用意し、25℃で保存して外観の変化を観察した。実施例2と同様の基準によって有効保存日数を求めた。結果を表7に示す。

【0042】

【表7】

10

保存剤の種類	有効保存日数(25℃) (日)
無添加	0.8
保存剤1(対照品)	2.5
保存剤2(対照品)	1.4
保存剤3(対照品)	1.5
保存剤4(対照品)	1.6
保存剤5(対照品)	1.7
保存剤6(対照品)	1.3
保存剤7(本発明品)	5.8
保存剤8(本発明品)	5.6
保存剤9(本発明品)	5.6
保存剤10(本発明品)	5.3
保存剤11(本発明品)	5.7
保存剤12(本発明品)	7.1
保存剤13(本発明品)	7.2
保存剤14(本発明品)	7.2
保存剤15(本発明品)	6.9
保存剤16(本発明品)	6.8
保存剤17(本発明品)	6.7
保存剤18(本発明品)	6.8
保存剤19(本発明品)	6.5
保存剤20(本発明品)	6.4
保存剤21(本発明品)	6.3

20

30

【0043】

【発明の効果】本発明の食品用保存剤は、食品の保存性を著しく向上させることができ、特に、酵母やカビに汚染された食品の品質保持期間を延長することに有効である。しかも、食品本来の味、色調を変化させることなく、添加による品質上の悪影響がなく、各種の食品の保存のために極めて有効である。

40

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)